

19 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

12 Veröffentlichung
11 DE 32 49 399 T 1

51 Int. Cl. 3:
G 01 N 1/10
C 12 M 1/26

- der internationalen Anmeldung mit der
Veröffentlichungsnummer: WO 83/03302
In deutscher Übersetzung (Art. III § 8 Abs. 2 int.Pat.ÜG)
- 21 Deutsches Aktenzeichen: P 32 49 399.1
63 PCT Aktenzeichen: PCT/SU82/00012
65 PCT Anmeldetag: 19. 3. 82
67 PCT Veröffentlichungstag: 29. 9. 83
43 Veröffentlichungstag der PCT Anmeldung
in deutscher Übersetzung: 22. 3. 84

DE 32 49 399 T 1

71 Anmelder:

Institut biochimii i fiziologii mikroorganizmov
Akademii Nauk SSSR, Puščino, Moskovskaja
oblast', SU

74 Vertreter:

Zellentin, R., Dipl.-Geologe Dr.rer.nat., 8000
München; Zellentin, W., Dipl.-Ing., Pat.-Anw., 6700
Ludwigshafen

72 Erfinder:

Redikul'zev, Jurij V.; Škidtšenko, Aleksandr N.,
Puščino, Moskovskaja oblast', SU; Sanin, Jurij G.,
Moskva, SU; Gorbunov, Oleg P.; Maksimov, Michail
G.; Čermenskaja, Taisija S., Puščino, Moskovskaja
oblast', SU

64 Einrichtung zur sterilen Probeentnahme aus einem Fermenter

DE 32 49 399 T 1

Die Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

BUNDESDRUCKEREI 02. 84 408 612/5

8/20

BEST AVAILABLE COPY

EINRICHTUNG ZUR STERILEN PROBEENTNAHME
AUS EINEM FERMENTER

Zusammenfassung

Die erfindungsgemäße Einrichtung

- 5 zur sterilen Probeentnahme aus einem Fermenter ent-
hält einen Probenehmer (1), der an einem Fermenter (3)
in der Vermischungszone der Kulturflüssigkeit an-
gebracht ist, und einen keimfreien Probeaufnehmer (11).
Der Probenehmer (1) ist in Form eines normal geschlos-
10 senen Ventils ausgeführt, an dessen Gehäuse (4) auf
der Seite des Kontaktes mit dem Probeaufnehmer (11)
ein ringförmiger Vorsprung (8) ausgebildet ist. Der
Probeaufnehmer (11) ist bei der Entnahme von Proben
am Probenehmer (1) angeordnet und steht mit diesem
15 in Verbindung. Der Probeaufnehmer (11) ist evakuiert
ausgeführt, und an seinem Hals ist ein normal
geschlossenes Ventil (12) angebracht, an dessen
Gehäuse (13) auf der Seite des Kontaktes mit dem
Probenehmer (1) eine Ringnut (17) eingearbeitet
20 ist, die dem ringförmigen Vorsprung (8) des Pro-
benehmers (1) zugeordnet ist. Bei der Vereinigung
und Zusammenwirkung der letzteren bildet sich ein
hermetisch dichter Kanal (19) für den Durchfluß
der Kulturflüssigkeit aus dem Fermenter (3) in den
25 Probeaufnehmer (11).

Fig. 1

EINRICHTUNG ZUR STERILEN
PROBEENTNAHME AUS EINEM FERMENTER

Die Erfindung bezieht sich auf

- 5 Einrichtungen für mikrobiologische Untersuchungen,
insbesondere auf eine Einrichtung zur sterilen
Probeentnahme aus einem Fermenter.

- 10 Eine sterile Entnahme von Kulturflüssigkeit
aus einem Fermenter ist zur Durchführung
einer Kontrolle über den Zustand eines zu
untersuchenden Objektes und zur Bestimmung der
Lebensbedingungen des Mediums erforderlich. Sämt-
liche Labor- und Industrief fermenter sind mit Einrich-
15 tungen zur sterilen Entnahme von Kulturflüssigkeits-
proben versehen. Trotz einer bedeutenden
Vielzahl an Fermenterkonstruktionen
unterscheiden sich die Einrichtungen zur Entnahme
von Kulturflüssigkeitsproben konstruktiv wenig
20 voneinander. Die Entnahme von Kulturflüssigkeits-
proben aus dem Fermenter erfolgt von Hand und
schließt Operationen ein, die gleichzeitig
ausgeführt werden müssen. Die Probeentnahme wird
üblicherweise von zwei Forschern vorgenommen, wozu
25 man in der Flamme eines brennenden Spirituskochers
den Stopfen von einem keimfreien Probeaufnehmer
abnimmt und die Klemme eines Rohrs für den Ablauf
der Kulturflüssigkeit öffnet oder eine Betätigung
von Ventilen ausführt. Die Dauer der Entnahme von
30 Proben gestattet es nicht, den Zustand der Über-
gangsprozesse der Entwicklung von Mikroorganismen
zu analysieren, was in der Forschungspraxis am
wichtigsten ist. Das letztere macht letztlich
die Suche nach neuen konstruktiven Lösungen für
35 Einrichtungen zur sterilen Entnahme von

Kulturflüssigkeits^{proben} aus einem Fermenter erforderlich.

Bekannt ist eine Einrichtung zur sterilen Probeentnahme aus einem Fermenter (siehe z.B. den Prospekt der Firma "New Brunswick scientific Co., inc, Modell FM 250), die ein am Fermenter angebrachtes

und mit einem Ventil versehenes Abflußrohr enthält, an dessen Abflußstutzen eine Rohrleitung beigeführt ist, über welche Dampf zugeleitet wird.

Zur Durchführung der Entnahme einer Kulturflüssigkeitsprobe aus dem Fermenter muß der mit einem Watten- oder einem^{sonst} leicht abnehmbaren Stopfen verschlossene Probeaufnehmer im voraus entkeimt werden. Danach wird der Probeaufnehmer an den Abflußstutzen angeschlossen, mit Dampf zur Sterilisierung behandelt und das Ventil zur Probeentnahme geöffnet.

Bei der Verwendung der genannten Einrichtung muß ein Teil der in der Rohrleitung befindlichen Kulturflüssigkeit abgegossen werden, was zu unerwünschten Verlusten an Kulturflüssigkeit besonders bei der Durchführung periodischer Zuchtvorgänge von Mikroorganismen führt. Außerdem ist es beim Einsatz dieser Einrichtung erforderlich, daß die Kulturflüssigkeit im Fermenter unter Überdruck steht, was bei der Zucht von Mikroorganismen nicht immer bequem oder möglich ist, oder es muß in der Abflußleitung eine Förderpumpe verwendet werden. Über den Abflußstutzen geschieht der Austrag des Dampfes in den Raum, was die Arbeit des Bedienungspersonals ebenfalls erschwert.

Bekannt ist^{ferner} eine Einrichtung zur sterilen Probeentnahme aus einem Fermenter unter Ausnutzung von Antiseptika, beispielsweise von Chloramin, die eine Rohrleitung mit Ventil für den Durchfluß der Kulturflüssigkeit aus dem Fermenter und eine Rohrlei-

tung mit Ventil für den Durchfluß von Antiseptikum enthält. Die Rohrleitungen vereinigen sich hinter den Ventilen zu einer einheitlichen Rohrleitung, die einen Abflußstutzen aufweist. Als entkeimte Probeaufnehmer werden mit einem Wattestopfen verschlossene Reagenzgläser verwendet. Zur Probeentnahme wird das Ventil für den Ablauf der Kulturflüssigkeit geöffnet, und nach einem teilweisen Ablauf derselben öffnet man den Stopfen des Probeaufnehmers, indem man diesen unter den Strahl hält. Nach der Entnahme einer erforderlichen Menge an Kulturflüssigkeit verschließt man den Probeaufnehmer mit dem Stopfen, wobei auch das Abflußventil geschlossen wird. Hiernach wird das Ventil an der Rohrleitung mit Antiseptikum geöffnet und ein teilweiser Ablauf des letzteren vorgenommen, wobei dieses Antiseptikum im Abflußstutzen bis zur nächsten Probeentnahme verbleiben soll.

Die besagte Einrichtung sieht einen zusätzlichen Ablauf der Ablagerungen der Kulturflüssigkeit vor, was letzten Endes Verluste der letzteren zur Folge hat. Außerdem bleibt beim vorläufigen teilweisen Ablauf der Kulturflüssigkeit das Antiseptikum zum Teil an den Wänden des Abflußstutzens zurück, wodurch das Antiseptikums in den Probeaufnehmer ^{gelangt} und zur ^{Beeinträchtigung} der Ergebnisse der Analyse besonders bei der Arbeit mit Fermenten, führt.

Es ist eine Einrichtung zur sterilen Probeentnahme aus einem Fermenter bekannt, die einen Probenehmer, der am Fermenter in der Vermischungszone der Kulturflüssigkeit angebracht ist, und einen keimfreien Probeaufnehmer enthält (siehe z.B. den Prospekt der Firma "New Brunswick scientific Co., inc, BIOFLO Modell C 30).

Die Einrichtung enthält weiterhin ein Abflußrohr

.5.

- 4 -

mit Schraubklemme, an dem eine Kammer mit einem Gummidruckball oder einer Spritze und eine Kopplungseinheit befestigt sind. Der entkeimte Probeaufnehmer wird montiert und an die Kopplungseinheit unter der Flamme eines Brenners angeschlossen. Die Entnahme einer Probe geschieht folgendermaßen. Man drückt auf den Gummidruckball bei geöffneter Schraubklemme, wobei die Luft aus dem Probeaufnehmer in den Fermenter verdrängt wird. Bei der Freigabe des Gummidruckballs wird dessen Form wiederhergestellt und gleichzeitig die Kulturflüssigkeit aus dem Fermenter in den Probeaufnehmer angesaugt. Danach wird die Schraubklemme geschlossen, und unter der Flamme des Brenners wird die Auswechselung des Probeaufnehmers mit der entnommenen Probe gegen einen keimfreien leeren Probeaufnehmer ausgeführt.

Die Verwendung der genannten Einrichtung macht es erforderlich, daß der Forscher bei der Probeentnahme eine ganze Reihe von aufeinanderfolgend durchzuführenden Arbeitsgängen ausführen^{muss}, was einen großen Zeitaufwand voraussetzt. Das letztere erlaubt es nicht, eine große Anzahl von Proben pro Zeiteinheit zu entnehmen, was bei der Untersuchung der Entwicklungsdynamik von Mikroorganismen notwendig ist. Die Verwendung der offenen Flamme bei der Verbindung und Trennung des Probeaufnehmers bietet keine Möglichkeit, diese Einrichtung bei der Arbeit mit explosiven Gasen einzusetzen, in deren Medium manche Arten von Mikroorganismen gezüchtet werden. Die Rückführung der Luft in den Fermenter beim Drücken auf den Gummiball ist nicht immer erwünscht und bei der Arbeit mit einem Objekt, das^{nur} bei einem exakten Verhältnis von zugeführten Gasen wächst, beispielsweise bei der Arbeit mit wasserstoffoxydierenden Bakterien, gar unzulässig. Außerdem sind in der

besagten Einrichtung Verluste an Kulturflüssigkeit ebenfalls zu verzeichnen, die vor der Probeentnahme aus dem Ablagerungsbereich des Abflußrohrs stets abgegossen werden muß.

5

Der vorliegenden Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, eine Einrichtung zur sterilen Entnahme von Kulturflüssigkeitsproben aus einem Fermenter mit einer Ausführung des Probenehmers und Verbindung desselben mit dem Probeaufnehmer zu schaffen, die es gestatten, die Zeit der Probeentnahme wesentlich zu verringern, die Keimfreiheit der Probe aufrechtzuerhalten, die Verluste an Kulturflüssigkeit bei der Probeentnahme auszuschließen sowie ein Filtrat bei der Probeentnahme unmittelbar aus dem Fermenter zu erhalten und die Keimfreiheit des Probeaufnehmers augenscheinlich zu machen.

Die gestellte Aufgabe wird dadurch gelöst, daß in der Einrichtung zur sterilen Entnahme von Kulturflüssigkeitsproben aus einem Fermenter, die einen Probenehmer, welcher am Fermenter in der Vermischungszone der Kulturflüssigkeit angebracht ist, und einen keimfreien Probeaufnehmer enthält, erfindungsgemäß der Probeaufnehmer bei der Probeentnahme am Probenehmer angeordnet und mit diesem verbunden ist, wobei der Probenehmer in Form eines normal geschlossenen Ventils ausgeführt ist, an dessen Gehäuse auf der Seite des Kontaktes mit dem Probeaufnehmer ein ringförmiger Vorsprung ausgebildet ist, während der Probeaufnehmer evakuiert ausgeführt und an seinem Hals ein normal geschlossenes Ventil angebracht ist, an dessen Gehäuse auf der Seite des Kontaktes mit dem Probenehmer eine Ringnut mit Dichtung eingearbeitet ist, die dem ringförmigen Vorsprung des

7.
- 6 -

Probenehmers zugeordnet ist, welche bei ihrer Vereinigung und Zusammenwirkung einen hermetisch dichten Kanal für den Durchfluß der Kulturflüssigkeit aus dem Fermenter in den Probeaufnehmer bilden.

- 5 Es ist von Vorteil, daß das normal geschlossene Ventil am Hals des Probeaufnehmers mittels einer elastischen Manschette angebracht ist.

- 10 Vorzugsweise wird in der elastischen Manschette zwischen dem normal geschlossenen Ventil und dem Hals des Probeaufnehmers ein bakteriendichtes Filter angeordnet.

- 15 Die erfindungsgemäß vorgeschlagene Einrichtung zur sterilen Probeentnahme aus einem Fermenter gestattet es, die Entnahme von Proben durch einen Forscher vorzunehmen und dabei die für die Entnahme einer Probe aufgewendete Zeit wesentlich zu verringern. Der evakuierte Probeaufnehmer macht es möglich, die Keimfreiheit der Probe aufrechtzuerhalten und eine Dauerlagerung der entnommenen sterilen Probe sicherzustellen. Der Einbau des bakteriendichten Filters ermöglicht es, ein Filtrat bei der Probeentnahme unmittelbar aus dem Fermenter zu erhalten. Durch Fehlen irgendwelcher Stillstandszonen können die Verluste der Kulturflüssigkeit beim Probennehmen
25 vollkommen ausgeschlossen werden. Die am Hals des Probeaufnehmers angebrachte elastische Manschette erlaubt es, die Dichtheit, d.h. die Keimfreiheit des Probeaufnehmers, augenscheinlich zu machen, wobei die Entnahme einer Probe in einen unsterilen Probeaufnehmer ausgeschlossen ist.
30

Im folgenden wird die Erfindung anhand von Ausführungsbeispielen unter Hinweis auf die beigefügten Zeichnungen erläutert. Es zeigt:

- 35 Fig. 1 eine Einrichtung zur sterilen Probeentnahme

aus einem Fermenter (Längsschnitt);

Fig. 2 ein Ausführungsbeispiel, ^{das} mit einer elastischen Manschette, in der ein bakterienndichtes Filter eingebaut ist, versehen ist.

Die Einrichtung zur sterilen Probeentnahme aus einem Fermenter enthält einen Probenehmer 1 (Fig. 1), der an einer Rohrleitung 2 angebracht ist, mit deren Hilfe der Rücklauf der Kulturflüssigkeit aus einem Fermenter 3 zustande kommt. Die Entnahme der Kulturflüssigkeit erfolgt aus der Zone der aktiven Vermischung.

Der Probenehmer 1 ist in Form eines normal geschlossenen Ventils ausgeführt, das ein Gehäuse 4, eine Feder 5 und ein Absperrelement 6 enthält, welches an einer Stange 7 angebracht ist. Am Gehäuse 4 ist ein ringförmiger Vorsprung 8 ausgebildet. Das Gehäuse 4 des normal geschlossenen Ventils ist in der Rohrleitung 2 mittels einer Beilage 9 und einer Schraubenverbindung 10 eingebaut (s. Darstellung).

Die Einrichtung enthält weiterhin einen keimfreien Probeaufnehmer 11, der in der hier beschriebenen Variante ein evakuiertes Reagenzglas darstellt. An dem Hals des Probeaufnehmers 11 ist ein normal geschlossenes Ventil 12 angebracht, das dem vorstehend beschriebenen ähnlich ist und ein Gehäuse 13, eine Feder 14 und ein Absperrelement 15 enthält, welches an einer Stange 16 angebracht ist. Am Gehäuse 13 ist eine Ringnut 17 mit Dichtung 18 eingearbeitet, die dem ringförmigen Vorsprung 8 des Probenehmers 1 zugeordnet ist. Der Vorsprung 8 und die Nut 17 bilden bei ihrer Vereinigung und Zusammenwirkung einen hermetisch dichten Kanal 19 für den Durchfluß der Kulturflüssigkeit aus dem Fermenter 3

9.

- 8 -

in den Probeaufnehmer 11.

Das normal geschlossene Ventil 12 ist am Hals des Probeaufnehmers 11 mittels einer elastischen Manschette 20 angebracht, die in der hier geschilderten Variante zusammen mit dem Ventil 12 innerhalb des Probeaufnehmers 11 untergebracht ist.

Möglich ist eine Variante, bei der die elastische Manschette 20 (Fig. 2) eine längliche Form hat und mit der einen Seite den Hals des Probeaufnehmers 11 und mit der anderen Seite das Gehäuse 13 des normal geschlossenen Ventils 12 umfaßt. Dies ist erstens für die Anzeige des Vorhandenseins von Vakuum im Probeaufnehmer 11, ^{vorteilhaft} weil die elastische Manschette 20 in diesem Fall zusammengedrückt oder abgeflacht ist, und zweitens wird es dadurch möglich, als Probeaufnehmer 11 Gefäße ^{mit} verschiedenen ^{Fassungsvermögen} in Abhängigkeit von dem geforderten Volumen der zu entnehmenden Probe zu verwenden.

Zur Adsorption von Mikroorganismen und Gewinnung eines Filtrats aus der Kulturflüssigkeit ohne Zentrifugieren ist in der elastischen Manschette 20 zwischen dem normal geschlossenen Ventil 12 und dem Hals des Probeaufnehmers 11 ein in einem Gehäuse 22 angeordnetes bakteriendichtes Filter 21 vorgesehen.

Die vorstehend beschriebene Einrichtung zur sterilen Probeentnahme aus einem Fermenter hat folgende Funktionsweise.

Der Forscher setzt den keimfreien evakuierten Probeaufnehmer 11 (Fig. 1) auf den Probenehmer 1 so auf, daß der ringförmige Vorsprung des Probenehmers 1 in die Ringnut 17 des Probeaufnehmers 11 eingreift. Hierbei bildet sich der hermetisch dichte Kanal 19, der mittels des elastischen Ringes 18 abgedichtet wird. Beim Drücken auf den Probeaufnehmer in der Weise, daß die Kraftrichtung mit der Längs-

achse des Ventils 12 zusammenfällt, kommt es dann zum Zusammenwirken der Stangen 7 und 16. Infolgedessen werden die Federn 5 und 14 zusammengedrückt, die Absperr Elemente 6 und 15 öffnen sich und geben den Kanal 19 frei, über welchen die

5 Kulturflüssigkeit aus dem Fermenter 3 in den Probeaufnehmer 11 überströmen/^{kann}. Nach der Entnahme einer erforderlichen Menge an Kulturflüssigkeit beseitigt
10 / der Forscher die Krafteinwirkung, wobei die Federn 5, 14 die normal geschlossene Ausgangslage der Absperr Elemente 6 und 15 wiederherstellen.

Die sterile Probeentnahme aus dem Fermenter 3 mit der nachfolgenden Gewinnung von Filtrat kommt folgenderweise zustande.

15 Aus einem Satz von entkeimten und evakuierten Probeaufnehmern 11 wählt der Forscher jene, in denen die elastischen Manschetten 20 abgeflacht sind, welche als Anzeiger der Aufrechterhaltung des Vakuums im Probeaufnehmer 11 dienen. Des weiteren
20 führt der Forscher Probeentnahmevorgänge aus, die den vorstehend beschriebenen ähnlich sind. Über den hermetisch dichten Kanal 19 strömt die Kulturflüssigkeit in die Zone A der elastischen Manschette 20 über. Nach der Entnahme einer Probe beseitigt der
25 Forscher die Krafteinwirkung, die Absperr Elemente 6, 15 kehren in die normal geschlossene Lage zurück, wobei sich die elastische Manschette 20 ausdehnt. Dann setzt man den Probeaufnehmer 11 senkrecht mit dem Ventil 12 nach oben in ein Stativ ein. Im Pro-
30 beaufnehmer 11 und in der Zone A der elastischen Manschette 20 erfolgt ein Druckausgleich dank dem Durchfluß der Kulturflüssigkeit aus der Zone A über das bakteriendichte Filter 21 in den Probeaufnehmer 1. Die elastische Manschette 20 flacht sich
35 dabei wieder ab.

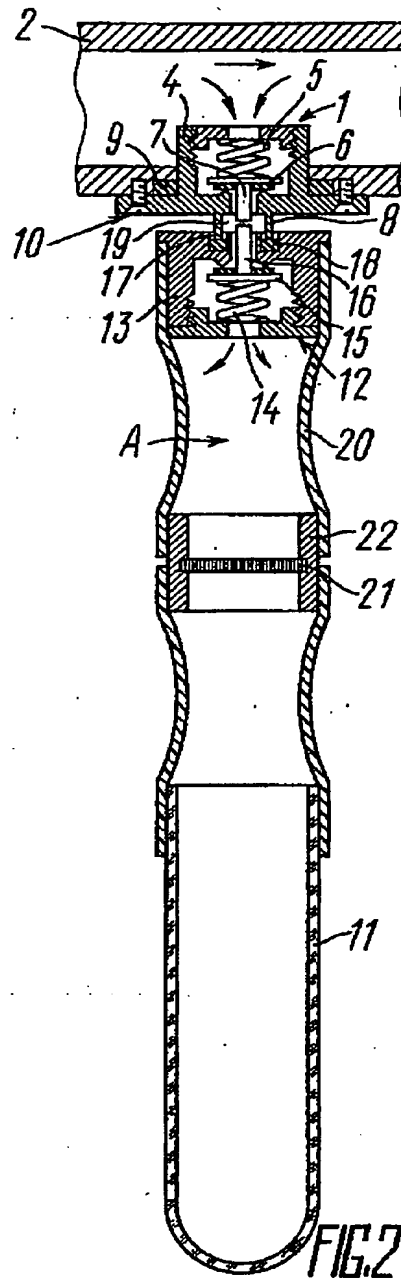
11.
- 10 -

- 5 Eine derartige Einrichtung findet in der mikrobiologischen, medizinischen, chemischen Industrie, in der Nahrungsmittelindustrie und in der Forschungspraxis zur sterilen Entnahme von Kulturflüssigkeitsproben Anwendung.

P A T E N T A N S P R Ü C H E

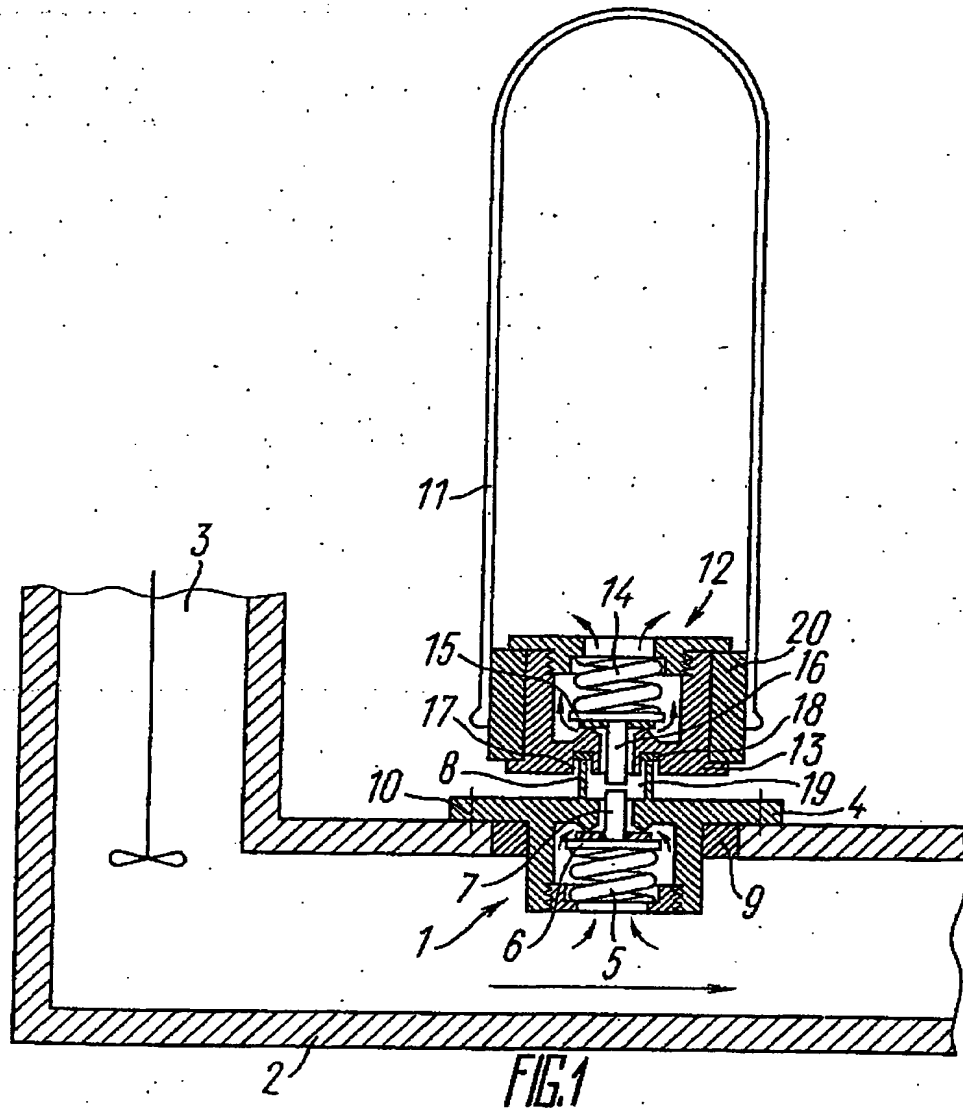
- 1 Einrichtung zur sterilen Probeentnahme aus einem Fermenter, die einen Probenehmer, welcher am Fermenter in der Vermischungszone der Kulturflüssigkeit angebracht ist, und einen keimfreien Probeaufnehmer enthält, dadurch gekennzeichnet, daß der Probeaufnehmer (11) bei der Probeentnahme am Probenehmer (1) angeordnet ist und mit diesem in Verbindung steht, wobei der Probenehmer (1) in Form eines normal geschlossenen Ventils ausgeführt ist, an dessen Gehäuse (4) auf der Seite des Kontaktes mit dem Probeaufnehmer (11) ein ringförmiger Vorsprung (8) ausgebildet ist, während der Probeaufnehmer (11) evakuiert ausgeführt und an seinem Hals ein normal geschlossenes Ventil (12) angebracht ist, an dessen Gehäuse (13) auf der Seite des Kontaktes mit dem Probenehmer (1) eine Ringnut (17) mit ^{einer} Dichtung (18) eingearbeitet ist, die dem ringförmigen Vorsprung (8) des Probenehmers (1) zugeordnet ist, welche bei ihrer Vereinigung und Zusammenwirkung einen hermetisch dichten Kanal (19) für den Durchfluß der Kulturflüssigkeit aus dem Fermenter (3) in den Probeaufnehmer (11) bilden.
2. Einrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das normal geschlossene Ventil (12) am Hals des Probeaufnehmers (11) mittels einer elastischen Manschette (20) angebracht ist.
3. Einrichtung nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß in der elastischen Manschette (20) zwischen dem normal geschlossenen Ventil (12) und dem Hals des Probeaufnehmers (11) ein bakteriendichtes Filter (21) angeordnet ist.

-13-
Leerseite



15.

Nummer: 32 49 399
 Int. Cl.³: G 01 N 1/10
 Anmeldetag: 19. März 1982
 Veröffentlichungstag: 22. März 1984



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.